

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001 年 4 月 26 日 (26.04.2001)

PCT

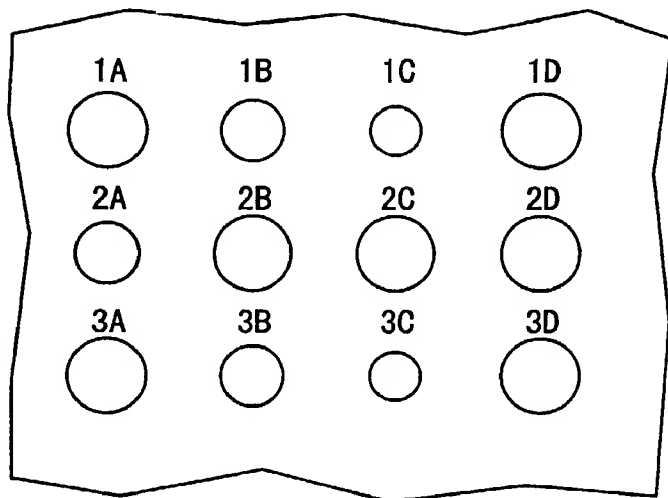
(10) 国際公開番号  
WO 01/29561 A1

- (51) 国際特許分類: G01N 33/566, 33/53, 37/00, 35/06
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/07343
- (22) 国際出願日: 2000 年 10 月 20 日 (20.10.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願平 11/301627  
1999 年 10 月 22 日 (22.10.1999) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本碍子株式会社 (NGK INSULATORS, LTD.) [JP/JP]; 〒467-8530 愛知県名古屋市瑞穂区須田町2番56号 Aichi (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 廣田 寿一 (HIROTA, Toshikazu) [JP/JP]. 大西 孝生 (OHNISHI, Takao) [JP/JP]; 〒467-8530 愛知県名古屋市瑞穂区須田町2番56号 日本碍子株式会社内 Aichi (JP).
- (74) 代理人: 千葉剛宏, 外 (CHIBA, Yoshihiro et al.); 〒151-0053 東京都渋谷区代々木2丁目1番1号 新宿マインズタワー16階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): JP, US.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (CH, DE, FI, FR, GB, IT, NL).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告書

[続葉有]

(54) Title: BIOCHIP

(54) 発明の名称: バイオチップ



(57) Abstract: The inspection accuracy of gene analysis conducted using a DNA microarray is improved. A DNA microarray (20) is prepared by supplying a sample solution onto a substrate (10) to form an array of spots (80) of the sample solution on the substrate (10). The shape of the spots (80) when viewed from above is generally circular, and the sizes thereof are different.

(57) 要約:

DNA マイクロアレイを使用して遺伝子解析をする場合に、その検査精度を向上させる。試料溶液を基板 10 上に供給して、該基板 10 上に試料溶液によるスポット 80 が多数配列された DNA マイクロアレイ 20 において、スポット 80 の平面形状をほぼ円形とし、スポットの大きさが異なる複数のスポットが基板上に形成されている。

WO 01/29561 A1



2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 *PCT* ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

## 明 細 書

## バイオチップ

## 5 技術分野

本発明は、生化学上の被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために使用されるバイオチップ等に代表される検査機器に用いられ、特に顕微鏡スライドガラス等の基板上に、数千から一万種類以上の異なる種類のDNA断片をスポットとして高密度に整列固定させたDNAマイクロアレイ（DNAチップ）に関する。

## 背景技術

近年における遺伝子構造の解析方法の進歩にはめざましいものがあり、ヒトの遺伝子をはじめとして、多数の遺伝子構造が明らかにされてきている。このような遺伝子構造の解析には、顕微鏡スライドガラス等の基板上に数千から数万種類以上の異なる種類のDNA断片をスポットとして整列固定させたDNAマイクロアレイ（DNAチップ）が用いられるようになってきている。

近年、DNAマイクロアレイから得られる情報には、その再現性、定量性、及び情報量の更なる拡大が求められ、各スポットから得られる情報の正確さ、均一さ、複雑さが要求されている。

ところで、DNAマイクロアレイの製造におけるスポットの形成方法としては、一般的にQUILL方式、ピン&リング方式、あるいはスプリングピン方式といった、いわゆるピンによる基板上へのDNA断片を含んだ試料溶液の供給（打ち込み）を行う方式が広く用いられており、いずれの方法を採用した場合であっても、各スポットの容量と形状のばらつきを低く抑えて、各スポット間の距離を一定に保つことが重要となる。

一方、更なる高密度化に向けて、スポットの形状制御性が良好であり、生産性に優れた新しい方法の開発に対する期待も大きい。

ところで、従来のスポット形成方法においては、ピンによる基板上への試料溶液の供給（打ち込み）であるため、ピンの先端形状や供給後にピンの先端に残存する試料溶液の残査等によってスポットの形状がまちまちとなり、図18に示すように、外周部分において凹凸の多いスポット200が基板202上に形成されることとなる。

形にばらつきのあるスポットが多数配列されたDNAマイクロアレイを用いて未知のDNAを検査した場合、スポットからの蛍光発光をCCDカメラ等で認識することが困難になりやすく、検査精度が低下するおそれがある。

また、外周部分に凹凸が多いと、角の部分を通じて、試料溶液が流れてしまい、複数のスポット200における試料溶液が混合するおそれもある。

本発明はこのような課題を考慮してなされたものであり、遺伝子解析のための検査精度を向上させ、得られる情報量の拡大がはかることができるDNAマイクロアレイを提供することを目的とする。

また、本発明の他の目的は、スポットの高集積化を達成させることができ、きめ細かい遺伝子解析を行うことができるDNAマイクロアレイを提供することにある。

また、本発明の他の目的は、反応するか、反応しないかというデジタル的な検査結果に加えて、スポットに固定化されるDNA断片の量に対してどのくらい反応するかを把握することが可能となり、被検体に対してアナログ的な検査結果を得ることができるDNAマイクロアレイを提供することにある。

なお、本発明の適用範囲は、DNA断片をスポットとして整列固定させたDNAマイクロアレイに限られたものではなく、生化学上の被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために使用されるバイオチップ全般に用いられる。

## 発明の開示

本発明は、被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために用いられるキャプチャー溶液を複数種類基板上に供給して、基板上にキャプチャー

溶液によるスポットが多数配列されたバイオチップにおいて、スポットの大きさが異なる複数のスポットが基板上に形成されていることを特徴とする。

- これにより、各スポット間において、スポット上に固定化されるキャプチャー量が異なること或いは被検体を捕らえる能力が異なるキャプチャーによるスポット間の被検体を捕らえる能力のバラツキを抑え、スポット間の検出感度の違いによる検査結果のバラツキ、定量性の劣化を抑えることが可能になる。

- 即ち、基板上に固定化される量が少ないキャプチャー、或いは被検体を捕らえる能力が低いキャプチャーに対応するスポットは、その大きさ、一般的には円形形状における径を大きくすることにより、1スポットあたりの検出感度を高め、
- 10 結果として全スポットの検出感度を揃えることができる。

更に、一枚の基板上に同一種類のキャプチャーのスポットが複数個形成される場合は、同一種類のキャプチャーについて、それぞれ基板上のスポットの大きさが異なる複数のスポットが形成されていることを特徴とする。

- このような構成にすることにより、同一種類のキャプチャーに対し、キャプチャーと反応するか、反応しないかというデジタル的な検査結果に加えて、スポットの大きさに応じてどのくらい反応するかを把握することが可能となり、被検体に対してアナログ的な検査結果を得ることができる。勿論、アナログ的な検査結果は、1つのスポットに固定化されたキャプチャーに反応するプローブの量をアナログ的に検出することにより理論的には可能であるが、検出機器の検出感度、
- 15 分解能、反応効率等の制限により、現実的には不可能であるため、本発明のように同一種類のキャプチャーについて、それぞれ基板上のスポットの大きさが異なる複数のスポットにより、検出自体はデジタルで行なうが、複数のスポットを合わせることでアナログ的解析を可能にする。

- また、本発明は、被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために用いられるキャプチャー溶液を複数種類基板上に供給して、基板上にキャプチャー溶液によるスポットが多数配列されたバイオチップにおいて、各スポットに固定化されているキャプチャー量の単位面積あたりの量が異なる複数のスポットが形成されていることを特徴とする。
- 25

これにより、上記スポットの大きさを異ならせた場合と同じく、各スポット間において、被検体を捕らえる能力が異なるキャプチャーによるスポット間の被検体を捕らえる能力のバラツキを抑え、スポット間の検出感度の違いによる検査結果のバラツキ、定量性の劣化を抑えることが可能になる。即ち、被検体を捕らえる能力が低いキャプチャーに対応するスポットは、そこに供給するキャプチャー液の濃度を高くすることにより、スポット上に固定化されるキャプチャー量を単位面積あたり多くし、1スポットあたりの検出感度を高め、結果として全スポットの検出感度を揃えることができる。

5

10

また、1スポット上に固定化されるキャプチャー量の単位面積あたりの量を変化させる方法は、上述した供給するキャプチャー液の濃度を変更させて対応してもよいが、1スポットあたりに供給するキャプチャー量を変更することによって行なっても良い。

15

なお、1スポットあたりに固定化されるキャプチャー量には上限があるため、被検体を捕らえる能力が高いキャプチャーに対応するスポットは、スポット全体の平均より低い濃度のキャプチャー液、或いは少ない量のキャプチャー液を供給する一方、被検体を捕らえる能力が低いキャプチャーに対応するスポットには固定化されるキャプチャー量の上限に相当、或いは超える量に対応する、濃度、量のキャプチャー液を供給する。

20

ところで、このように各スポット間で供給するキャプチャー液の濃度、量を個別に管理することは、誤りを誘発することが多く、なるべく工程を単純化することが有利である。その場合は、後述するようにインクジェット法を用いて基板上にキャプチャー液を供給する場合において、1スポットに対する吐出回数を変化させることによって供給する液量を変化させることが好適である。

25

また、供給するキャプチャー液の濃度を変更、或いは1スポットあたりに供給するキャプチャー量を変更することによって被検体を捕らえる能力が異なるキャプチャーによるスポット間の被検体を捕らえる能力のバラツキを抑える方法は、1スポットあたりの固定化するキャプチャーの固定化率が異なる場合にそのバラツキを低減するためにも用いられる。

つまり、固定化率の低いキャプチャーに対応するスポット形成には、供給するキャプチャー液の濃度を高く、或いは1スポットあたりに供給するキャプチャー量を多くすることにより、各スポットでの固定化効率のバラツキを抑えることができる。

- 5 更に、本発明においては、一枚の基板上に同一種類のキャプチャーのスポットが複数個形成される場合は、同一種類のキャプチャーについて、それぞれ基板上のスポットに固定化されているキャプチャー量の単位面積あたりの量が異なる複数のスポットが形成されていることを特徴とする。

- このような構成にすることにより、上記スポットの大きさを異ならせた場合と同じく、同一種類のキャプチャーに対し、キャプチャーと反応するか、反応しないかというデジタル的な検査結果に加えて、スポットの単位面積あたりの固定化されているキャプチャー量に応じてどのくらい反応するかを把握することが可能となり、被検体に対してアナログ的な検査結果を得ることができる。勿論、アナログ的な検査結果は、1つのスポットに固定化されたキャプチャーに反応するブ  
10 ローブの量をアナログ的に検出することにより理論的には可能であるが、検出機器の検出感度、分解能、反応効率等の制限により、現実的には不可能であるため、本発明のように同一種類のキャプチャーについて、それぞれ基板上のスポットの単位面積あたりに固定化されているキャプチャー量が異なる複数のスポットにより、検出自体はデジタルで行なうが、複数のスポットを合わせることでアナ  
15 ログ的解析を可能にする。

- 更に、本発明は、被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために用いられるキャプチャー溶液を複数種類基板上に供給して、基板上にキャプチャー溶液によるスポットが多数配列されたバイオチップにおいて、同一のスポット形成位置にそれぞれ、種類の異なるキャプチャーからなるスポットが形成さ  
20 れていることを特徴とする。この場合、スポットの配置面積を大幅に低減することができ、バイオチップ自体の小型化を図ることができる。

また、本発明は、被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために用いられるキャプチャー溶液を複数種類基板上に供給して、基板上にキャプ

チャー溶液によるスポットが多数配列されたバイオチップにおいて、各スポットの形状が略円形であり、且つ略円形の長軸と短軸の比が0.9以上、1.1以下であることを特徴とする。

- これにより、各スポットにおいて形状上のばらつきが低減され、スポットから
- 5 の蛍光発光をCCDカメラ等で認識することが容易になり、検査精度が向上することとなる。特に、スポットの平面形状がほぼ円形であることから、スポット形成の際に試料溶液が流れるということが回避され、複数のスポットにおいて試料溶液が混合するという不都合を防止することができる。そして、前記スポットが少なくとも千鳥状に配列されており、且つ基板上における検査有効面積に対する
- 10 前記スポットの非付着面積の割合が22%以下としても良い。この場合、スポットの高集積化を達成させることができるため、一度に大量で且つきめ細かい生化学試料の解析を行うことができる。

また、以上述べてきたバイオチップは、試料溶液によるスポットがインクジェット方式にて形成されていることが好ましい。

- 15 インクジェット方式は、キャプチャー液を大気中に吐出し基板上に着弾させることのよりスポットを形成するため、試料の表面張力によりスポットの形状は真円に近い円形になり、各スポットにおいて形状上のばらつきが低減される。また吐出の勢い、単位時間あたりの吐出の回数（吐出周波数）を電氣的に制御することにより、基板上の1つのスポットに供給されるキャプチャー量が自由に変
- 20 化させることができ、もってスポットの大きさ、基板上のスポットに固定化されている単位体積あたりのキャプチャー量が可変できる。

- 特に、単位体積あたりのキャプチャー量を可変することは、インクジェット方式において基板上の1つのスポットに複数回キャプチャー液を吐出・供給することによって行われることが良い。即ち、一度に大量のキャプチャー液を吐出・
- 25 供給するのではなく、複数回にわけて吐出・供給し、且つ吐出間隔を調整し一回の吐出によるスポットが次の吐出のキャプチャー液の重ねによりスポット径が広がることのないようにすることにより、スポットの大きさを変化させることなく、該スポットに供給するキャプチャー量を増減でき、もって単位面積あたりのキャ



プチャー密度を可変することができるのである。

#### 図面の簡単な説明

図 1 は、本実施の形態に係る DNA マイクロアレイを示す斜視図である。

- 5 図 2 は、本実施の形態に係る DNA マイクロアレイの構成を示す拡大断面図である。

図 3 は、本実施の形態に係る DNA マイクロアレイの製造方法を示す工程ブロック図である。

図 4 は、試料調製工程の内訳を示す工程ブロック図である。

- 10 図 5 A は、第 1 の実施の形態に係る DNA マイクロアレイの製造方法で使用される分注装置の構成を示す平面図である。

図 5 B は、その正面図である。

図 5 C は、分注装置を構成する 1 つのマイクロピペットを示す拡大平面図である。

- 15 図 6 は、マイクロピペットの構成を示す縦断面図である。

図 7 は、マイクロピペットの基体内に形成されるキャビティを含む流路の形状を示す斜視図である。

図 8 は、カートリッジと共に示す分注装置の分解斜視図である。

- 20 図 9 は、分注装置を使用して DNA マイクロアレイを製造する場合の第 1 の方法を示す説明図である。

図 10 は、分注装置を使用して DNA マイクロアレイを製造する場合の第 2 の方法を示す説明図である。

図 11 は、本実施の形態に係る DNA マイクロアレイにおけるスポットの形成状態を示す説明図である。

- 25 図 12 は、スポットをマトリクス状に配列した状態を示す説明図である。

図 13 は、スポットを千鳥状に配列した状態を示す説明図である。

図 14 A は、スポットの大きさが異なる複数のスポットが基板上に形成された状態を示す説明図である。

図 1 4 B は、同一の DNA 断片についてそれぞれ大きさ異なる 4 つのスポットを形成した状態を示す説明図である。

図 1 5 A は、各スポットに固定化されているキャプチャー量の単位面積あたりの量が異なる複数のスポットが形成された状態を示す説明図である。

- 5 図 1 5 B は、同一の DNA 断片についてそれぞれ固定化されているキャプチャー量の単位面積あたりの量が異なる 4 つのスポットを形成した状態を示す説明図である。

図 1 6 は、同一のスポット形成位置に種類の異なるスポットを形成した状態を示す説明図である。

- 10 図 1 7 は、図 1 6 における X V I I - X V I I 線上の断面図である。

図 1 8 は、従来のスポットの形状を示す説明図である。

発明を実施するための最良の形態

- 15 以下、本発明に係るバイオチップの実施の形態例のうち、DNA マイクロアレイの実施の形態例を図 1 ～図 ?? を参照しながら説明する。

本実施の形態に係る DNA マイクロアレイ 2 0 は、図 1 及び図 2 に示すように、基板 1 0 上に試料溶液の供給（滴下を含む）による微小スポット 8 0 が多数配列されて構成されている。基板 1 0 は、その表面に poly-L-lysine 層 1 2 が形成されている。

- 20 そして、基板 1 0 上に試料溶液の供給による微小スポット 8 0 を形成して DNA マイクロアレイ 2 0 を製造するには、例えば図 3 に示す製造工程を踏んで行われる。

- 25 即ち、基板 1 0 の表面に poly-L-lysine 層 1 2（図 2 参照）を形成する前処理工程 S 1 と、DNA 断片を含む試料溶液を調製する試料調製工程 S 2 と、得られた試料溶液を基板 1 0 上に供給する供給工程 S 3 とを踏んで DNA マイクロアレイ 2 0 が製造される。

前記試料調製工程 S 2 は、図 4 に示すように、DNA 断片を PCR 増幅して PCR 産物を調製する増幅工程 S 1 1 と、得られた PCR 産物を精製・乾燥して D

NA粉末とする精製工程S 1 2と、得られたDNA粉末を緩衝液に溶かす混合工程S 1 3とを含む。

- 具体的に説明すると、前処理工程S 1は、まず、基板10をアルカリ溶液に浸し、室温で少なくとも2時間ゆっくりと振盪する。前記アルカリ溶液は、例えば
- 5 NaOHを蒸留水に溶かし、更にエタノールを加えて、完全に透明になるまで攪拌した溶液である。

その後、基板10を取り出して、蒸留水中に移し、リンスして、アルカリ溶液を除去する。次いで、蒸留水中に poly-L-lysine を加えて調製された poly-L-lysine 液に基板10を浸し、1時間放置する。

- 10 その後、基板10を取り出して、遠心機にかけて遠心し、余分な poly-L-lysine 液を除去する。次いで、基板10を40℃、5分ほど乾燥させて、表面に poly-L-lysine 層12が形成された基板10を得る。

- 次に、試料調製工程S 2は、まず、既知のPCR機で増幅したPCR産物（増幅工程S 1 1）に、3Msodium acetate とイソプロパノールとを加え、数時
- 15 間放置する。その後、このPCR産物溶液を遠心機で遠心し、DNA断片を沈殿させる。

- 沈殿させたDNA断片をエタノールでリンスし、遠心した後、乾燥させてDNA粉末を生成する（精製工程S 1 2）。得られたDNA粉末に×1TEバッファを加え、数時間放置して完全に溶かすことによって（混合工程S 1 3）、試料溶
- 20 液が調製される。この段階での試料溶液の濃度は0.1～10μg/μリットルである。

- そして、本実施の形態では、得られた試料溶液を基板10上に供給してDNAマイクロアレイ20を製造する（供給工程S 3）。なお、試料調製工程S 2を経て得られた試料溶液に固定化液を混合するようにしてもよいし、試料溶液を希釈
- 25 するようにしてもよい。この場合、希釈液として前記緩衝液又は水やNaClを含んだ水溶液又はポリマーを含んだ水溶液を使用することができる。

更に、この実施の形態においてDNAマイクロアレイ20を製造する場合、例えば図5A～図7に示す分注装置30が有効に使用される。

この分注装置 30 は、図 5 A 及び図 5 B に示すように、矩形状の固定板 32 の上面に例えば 10 個のマイクロピペット 34 を 5 行 2 列に配列し、各列方向に整列されたマイクロピペット 34 群をそれぞれ固定治具 36 を介して固定板 32 に固定させた構成を有する。

- 5      マイクロピペット 34 は、図 5 C 及び図 6 に示すように、ほぼ直方体の形状を有する基体 50 の上面に形成された試料注入口 52 と、該基体 50 の下面に形成された試料吐出口 54 と、内部に試料注入口 52 と試料吐出口 54 との間に形成されたキャビティ 56 と、基体 50 を振動させたり、キャビティ 56 の体積を変化させたりするアクチュエータ部 58 とを有して構成されている。
- 10      従って、図 6 に示すように、前記固定板 32 には、マイクロピペット 34 の試料吐出口 54 に対応する箇所にそれぞれ貫通孔 40 が設けられている。これにより、マイクロピペット 34 の試料吐出口 54 から吐出された試料溶液が、前記貫通孔 40 を通じて、例えば固定板 32 の下方に固定された基板 20 に供給されることになる。
- 15      このマイクロピペット 34 は、試料注入口 52 から基体 50 の内部にかけて開口幅の大きいほぼ L 字状の導入穴 60 が形成されている。この導入穴 60 とキャビティ 56 との間には、径の小さい第 1 の連通孔 62 が形成され、試料注入口 52 から注入された試料溶液が導入穴 60 及び第 1 の連通孔 62 を通じてキャビティ 56 に導入されるようになっている。
- 20      キャビティ 56 のうち、前記第 1 の連通孔 62 とは異なる位置に、試料吐出口 54 に連通し、かつ、第 1 の連通孔 62 よりも径の大きい第 2 の連通孔 64 が形成されている。本実施の形態では、キャビティ 56 の下面のうち、試料注入口 52 寄りに第 1 の連通孔 62 を形成し、同じくキャビティ 56 の下面のうち、試料吐出口 54 に対応した位置に第 2 の連通孔 64 を形成するようにしている。
- 25      更に、この実施の形態では、基体 50 のうち、キャビティ 56 の上面が接する部分が薄肉とされ、外部応力に対して振動を受けやすい構造となっており、振動部 66 として機能するようになっている。振動部 66 の上面に前記アクチュエータ部 58 が形成されている。

基体 5 0 は、複数枚のジルコニアセラミックスのグリーンシート（第 1 の薄板層 5 0 A、第 1 のスペーサ層 5 0 B、第 2 の薄板層 5 0 C、第 2 のスペーサ層 5 0 D 及び第 3 の薄板層 5 0 E）を積層し、一体焼成して構成されている。

つまり、基体 5 0 は、試料注入口 5 2 を構成する窓部が形成され、一部において振動部 6 6 を構成する薄肉の第 1 の薄板層 5 0 A と、導入穴 6 0 の一部及びキャビティ 5 6 を構成する複数の窓部がそれぞれ形成された厚肉の第 1 のスペーサ層 5 0 B と、導入穴 6 0 の一部、第 1 の連通孔 6 2 及び第 2 の連通孔 6 4 の一部を構成する複数の窓部がそれぞれ形成された薄肉の第 2 の薄板層 5 0 C と、導入穴 6 0 の一部及び第 2 の連通孔 6 4 の一部を構成する複数の窓部がそれぞれ形成された厚肉の第 2 のスペーサ層 5 0 D と、試料吐出口 5 4 を構成する窓部が形成された薄肉の第 3 の薄板層 5 0 E とを積層し、一体焼成して構成されている。

アクチュエータ部 5 8 は、前記振動部 6 6 のほか、該振動部 6 6 上に直接形成された下部電極 7 0 と、該下部電極 7 0 上に形成された圧電／電歪層や反強誘電体層等の圧電層 7 2 と、該圧電層 7 2 の上面に形成された上部電極 7 4 とを有して構成されている。

下部電極 7 0 と上部電極 7 4 は、図 5 C に示すように、それぞれ基体 5 0 の上面に形成された複数のパッド 7 6 及び 7 8 を通じて図示しない駆動回路に電氣的に接続される。

上記のような構成のマイクロピペット 3 4 によれば、上部電極 7 4 と下部電極 7 0 との間に電界が生じると、圧電層 7 2 が変形し、それに伴って振動部 6 6 が変形し、振動部 6 6 に接しているキャビティ（加圧室）5 6 の容積が減少することになる。

このキャビティ 5 6 の容積の減少によってキャビティ 5 6 内に充填された試料溶液がキャビティ 5 6 に連通する試料吐出口 5 4 から所定速度で吐出され、図 1 に示すように、マイクロピペット 3 4 から吐出された試料溶液が顕微鏡スライドガラス等の基板 5 0 上に微小スポット 8 0 として整列固定された DNA マイクロアレイ 2 0 を作製することができる。

この場合、基板 1 0 上に形成される微小スポット 8 0 の配列ピッチよりも分注

装置 30 における試料吐出口 54 の配列ピッチが大きい場合は、分注装置 30 での供給位置をずらしながら試料溶液を供給することになる。

5      なお、アクチュエータ部 58 の駆動によって、キャビティ 56 の容積が減少する構造としては、いわゆるインクジェット方式の装置構造を採用することができる（特開平 6-40030 号公報参照）。

そして、キャビティ（加圧室）56 は、DNA 断片などを含む試料溶液が層流で移動するような流路寸法に形成されていることが好ましい。

つまり、キャビティ 56 の寸法は、試料の種類、作成する液滴の大きさ、形成密度より異なるが、例えば、塩基対長 1~10000 bp 程度の DNA 断片を 0.5  $\mu$ g/ $\mu$ リットルの濃度で緩衝液（TE バッファ）に溶解させた試料を数百  $\mu$ m ピッチで数百  $\mu$ m  $\phi$  液滴径の滴下を行う場合においては、図 7 に示すように、  
10      キャビティ長（L）は、1~5 mm、キャビティ幅（W）は、0.1~1 mm、キャビティ深さ（D）は、0.1~0.5 mm が好ましい。またキャビティ 56 の内壁には、流れを乱す突起物がないように滑らかであることがよく、その材質  
15      は、試料溶液と親和性のよいセラミックスからなることが好ましい。

このような形状にすることにより、キャビティ 56 を試料注入口 52 から試料吐出口 54 に至る流路の一部として、試料注入口 52 から導入穴 60、第 1 の連  
通孔 62 を経てキャビティ 56 内に移動する試料溶液の流れを乱すことなく試料吐出口 54 に導くことができる。

20      ところで、図 5A に示すように、固定板 32 の上面には、マイクロピペット 34 を位置決め固定するための複数のピン 38 が設けられている。マイクロピペット 34 を固定板 32 上に固定する場合は、マイクロピペット 34 の基体 50 の両側に設けられた位置決め用孔 90（図 5C 参照）に固定板 32 のピン 38 を挿入させながら、マイクロピペット 34 を固定板 32 に載置することで、自動的に複  
25      数のマイクロピペット 34 が所定の並びで配列位置決めされることになる。

また、各固定治具 36 は、複数のマイクロピペット 34 を固定板 32 に押さえ付ける押さえ板 100 を有する。押さえ板 100 の両端には、それぞれネジ 102 が挿通される挿通孔が形成され、この挿通孔にネジ 102 を挿通して、固定板

3 2 にねじ込むことによって、前記押さえ板 1 0 0 で複数のマイクロピペット 3 4 を一度に固定板 3 2 に押さえ付けることができるようになっている。そして、1 つの押さえ板 1 0 0 で押さえ付けた複数のマイクロピペット 3 4 で 1 つのユニットが構成される。図 5 A の例では列方向に配列された 5 つのマイクロピペット 3 4 で 1 つのユニットが構成された例を示している。

また、押さえ板 1 0 0 には、複数のマイクロピペット 3 4 を押さえ付けたときに、各マイクロピペット 3 4 の試料注入口 5 2 に対応する箇所にそれぞれ試料溶液を供給するための導入孔 1 0 4 (図 5 B 参照) が形成されており、各導入孔 1 0 4 の上端部にはそれぞれ試料溶液を導入孔 1 0 4 に導くためのチューブ 1 0 6 が保持されている。

なお、押さえ板 1 0 0 の幅は、配線作業の効率化を考慮すると、複数のマイクロピペット 3 4 を固定板 3 2 に押さえ付けた際に、アクチュエータ部 5 8 の各電極 7 0 及び 7 4 につながるパッド 7 6 及び 7 8 が上方に臨むような寸法であることが好ましい。

このように、上述の分注装置 3 0 は、試料注入口 5 2 及び試料吐出口 5 4 を有するマイクロピペット 3 4 の複数個をそれぞれ試料吐出口 5 4 を下方向に向けた状態で立設させて構成されている。

即ち、各マイクロピペット 3 4 は、それぞれの試料注入口 5 2 を上側とし、試料吐出口 5 4 を下側とし、かつ、各試料吐出口 5 4 が縦横に配列配置されて、試料吐出口 5 4 からそれぞれ種類の異なる試料溶液が吐出されるようになっている。

このような構成を有する分注装置 3 0 において、各試料注入口 5 2 に対応してそれぞれ種類の異なる試料溶液を供給する方法としては、一般的に X Y ロボットとディスペンサを組み合わせた自動分注機等が用いられるが、図 8 に示すように、例えば多数の断面ほぼ V 字状の凹部 (溜め部) 1 1 0 が配列されたカートリッジ 1 1 2 を使用する方法がある。この方法は、カートリッジ 1 1 2 の各凹部 1 1 0 にそれぞれ種類の異なる試料溶液を入れ、該カートリッジ 1 1 2 を各凹部 1 1 0 とチューブ 1 0 6 とがそれぞれ対応するように取り付け、針等で各凹部 1 1 0 の底を開封することによって、各凹部 1 1 0 にあった試料溶液をチューブ 1 0 6 を

介して各マイクロピペット 3 4 に供給する方法である。

- また、チューブ 1 0 6 を用いない場合は、カートリッジ 1 1 2 を各凹部 1 1 0 と固定治具 3 6 の各導入孔 1 0 4 とがそれぞれ対応するように取り付け、針等で各凹部 1 1 0 の底を開封することによって、各凹部 1 1 0 にあった試料溶液を導入孔 1 0 4 を介して各マイクロピペット 3 4 に供給する方法のほか、予め、固定治具 3 6 における各導入孔 1 0 4 の近傍に針等を形成し、カートリッジ 1 1 2 を固定治具 3 6 に取り付けると同時に各凹部 1 1 0 が開封されるようにしてもよい。

- なお、開封後に気体等を圧送し、試料溶液を強制的に押し出す機構を加えてもよく、更には、各マイクロピペットの吐出口から吸引する機構を付加しても良い。
- 10 また、各マイクロピペット 3 4 の基体 5 0 内に形成された試料注入口 5 2 から試料吐出口 5 4 に至る空間を洗浄する機構を備えることは、数千から数万種類という多種類の DNA 断片などを汚染なく、しかも純度よく微小スポット 8 0 として吐出するために望ましい。

- 図 5 A の例では、押さえ板 1 0 0 の両端をネジ 1 0 2 で固定板 2 0 に締め付けることで行っているが、押さえ板 1 0 0 の固定法は、ネジ、バネ等で機械的に行うほか、接着剤等で行ってもよい。
- 15

また、マイクロピペット 3 4 を構成する基体 5 0 は、上述したように、セラミックスで形成されており、例えば、安定化ジルコニアや部分安定化ジルコニア、アルミナ、マグネシア、窒化珪素等を用いることができる。

- 20 このうち、安定化／部分安定化ジルコニアは、薄板においても機械的強度が大きいこと、靱性が高いこと、圧電層 7 2 や電極材との反応性が小さいことから最も好適に採用される。

- そして、基体 5 0 等の材料として安定化／部分安定化ジルコニアを使用する場合には、少なくとも、アクチュエータ部 5 8 が形成される部分（振動部 6 6）には、アルミナあるいはチタニア等の添加物が含有されることが好ましい。
- 25

また、アクチュエータ部 5 8 を構成する圧電層 7 2 は、圧電セラミックスとして、例えば、ジルコン酸鉛、チタン酸鉛、マグネシウムニオブ酸鉛、マグネシウムタンタル酸鉛、ニッケルニオブ酸鉛、亜鉛ニオブ酸鉛、マンガニニオブ酸鉛、



アンチモンスズ酸鉛、マンガンタングステン酸鉛、コバルトニオブ酸鉛、チタン酸バリウム等やこれらのいずれかを組み合わせた成分を含有する複合セラミックスを用いることができるが、本実施の形態においては、ジルコン酸鉛とチタン酸鉛及びマグネシウムニオブ酸鉛からなる成分を主成分とする材料が好適に用いられる。

これは、このような材料が、高い電気機械結合係数と圧電定数を有することに加え、圧電層 7 2 の焼結時における基体材料との反応性が小さく、所定の組成のものを安定に形成することができることに基づくからである。

更に、本実施の形態では、前記圧電セラミックスに、ランタン、カルシウム、ストロンチウム、モリブデン、タングステン、バリウム、ニオブ、亜鉛、ニッケル、マンガン、セリウム、カドミウム、クロム、コバルト、アンチモン、鉄、イットリウム、タンタル、リチウム、ビスマス、スズ等の酸化物、もしくはこれらいずれかの組合せ、又は他の化合物を適宜、添加したセラミックスを用いてもよい。

例えば、ジルコン酸鉛とチタン酸鉛及びマグネシウムニオブ酸鉛を主成分とし、これにランタンやストロンチウムを含有するセラミックスを用いることもまた好ましい。

一方、アクチュエータ部 5 8 における上部電極 7 4 及び下部電極 7 0 は、室温で、固体であって導電性の金属で構成されていることが好ましく、例えば、アルミニウム、チタン、クロム、鉄、コバルト、ニッケル、銅、亜鉛、ニオブ、モリブデン、ルテニウム、パラジウム、ロジウム、銀、スズ、タンタル、タングステン、イリジウム、白金、金、鉛等の金属単体あるいはこれらのいずれかを組み合わせた合金が用いられ、更に、これらに圧電層 7 2 や基体 5 0 と同じ材料を分散させたサーメット材料を用いてもよい。

次に、この分注装置 3 0 を使って DNA マイクロアレイ 2 0 を製造するいくつかの方法について図 9 ～ 図 1 2 を参照しながら説明する。

まず、第 1 の方法は、図 9 に示すように、各チューブ 1 0 6 からそれぞれ固定治具 3 6 の導入孔 1 0 4 を介して各マイクロピペット 3 4 のキャビティ 5 6 内に

それぞれ種類の異なる試料溶液を充填し、次いで、各アクチュエータ部 5 8 を駆動して、各マイクロピペット 3 4 の試料吐出口 5 4 から試料溶液を吐出させる。

キャビティ 5 6 内に溶液を充填する方法は、試料注入口 5 2 より導入された溶液の毛細管力により注入してもよいが、試料吐出口 5 4 から真空吸引して充填する

5 方法が確実である。

ここで、アクチュエータ部 5 8 の各電極 7 0 及び 7 4 に印加する電圧波形のうち、アクチュエータ部 5 8 がオン動作して、キャビティ 5 6 の容積を減少させる場合、各電極 7 0 及び 7 4 にはパルス的な電圧が印加されることになる。この場合、パルスの振幅を上げることによって、振動部 6 6 の変形が大きくなり、その  
10 分、試料溶液の吐出の勢い、吐出量も多くなる。また、一定期間に複数のパルスを印加する場合は、パルス周期を短くし、各パルスの振幅を小さくすることによって、少量の試料溶液を多数吐出させることができる。

なお、特に複数のマイクロピペットを用いて DNA マイクロアレイを製造する場合の 1 スポットあたりに供給される試料の量の制御の精度が高く求められる場合  
15 合は、少量の試料溶液を多数吐出する方法を採用することが好適である。何故なら吐出回数は電氣的に完全に制御できるため、各マイクロピペット毎の細かい吐出能力（吐出量）のバラツキを吐出回数により補正できるからである。

また、このとき、供給位置を適宜変えることによって、供給された試料溶液が基板 1 0 上で組み合わせられて（合体）、1 つのスポット径を有する試料溶液とし、  
20 供給する試料溶液の種類に応じて、供給数、供給位置及び 1 回の供給量を制御することで、基板 1 0 上に形成されるスポット径の均一化を図ることもできる。

次に、分注装置 3 0 を使った第 2 の方法について説明する。この第 2 の方法は、図 1 0 に示すように、各チューブ 1 0 6 からそれぞれ固定治具 3 6 の導入孔 1 0 4 を介して各マイクロピペット 3 4 のキャビティ 5 6 内に緩衝液や NaCl を含  
25 んだ水溶液、ポリマーを含んだ水溶液などの置換液を充填し、次いで、試料を試料注入口 5 2 からキャビティ 5 6 内に層流置換させながら注入した後、置換の完了を待つ。その後、アクチュエータ部 5 8 を駆動させて、試料溶液を基板 1 0 上に吐出供給させる。

キャビティ 5 6 内における試料の層流置換完了は、キャビティ 5 6 内の流体特性の変化を検知することにより把握することが好ましい。

5      なお、キャビティ 5 6 内の置換液と試料の置換は層流で行われることが好ましいが、試料の種類が変わった場合や、液体の移動速度が非常に速い場合においては、キャビティ 5 6 のうち、第 1 の連通孔 6 2 の近辺部分は、必ずしも層流でなくてもよい。この場合、試料と置換液の混合により試料溶液のパージ量は増大するが、キャビティ 5 6 内の流体特性の変化を検知して置換完了を判断することにより、パージ量の増大を最小に抑えることができる。

10      ここで、キャビティ 5 6 内の流体特性の変化は、アクチュエータ部 5 8 に振動を励起する程度の電圧を印加し、その振動に伴う電氣的定数の変化を検出することにより把握する。このような流体特性の変化の検知については、例えば、特開平 8 - 2 0 1 2 6 5 号公報に開示されている。

15      具体的には、アクチュエータ部 5 8 に対して、所定の間隔で、吐出駆動用の電源からの電氣的接続をリレーで切り離し、同時に、共振周波数を測定する手段をリレーにより接続し、その時点でのインピーダンスあるいは共振特性、例えば共振周波数や減衰率等を電氣的に測定する。

20      これにより、液体の粘度、比重等が目的の試料（DNA断片などを含む液体）であるかどうかを把握することができる。即ち、各マイクロピペット 3 4 においては、マイクロピペット 3 4 自体がセンサとして機能するため、マイクロピペット 3 4 の構成も単純化することができる。

そして、アクチュエータ部 5 8 を、求められるスポット径に応じた液滴量に対応した駆動条件にて駆動し、試料溶液の供給を繰り返すことにより、DNAマイクロアレイ 2 0 を製造する。通常、1つの微小スポット 8 0 を形成するのに、マイクロピペット 3 4 から 1 ～数百滴を吐出して行う。

25      なお、試料注入口 5 2 中の試料の量が減少した際には、緩衝液を追加し、流路中に気泡が入らないようにして、吐出を続けることにより、試料溶液をマイクロピペット 3 4 内に残すことなく使い切ることができる。試料から置換液への置換の完了（試料吐出の終了）は、同じく、アクチュエータ部 5 8 を用いた液体の粘

度、比重の検出で行う。

また、使用する置換液、試料としては、予め脱気操作を通して溶液中の溶存気体を取り除いたものを使用することが好ましい。そのような溶液を用いることにより、マイクロピペット 3 4 の流路内に溶液を充填する際に、流路途中で気泡が  
5 ひっかかり充填が不備になる場合でも、その気泡を溶液中に溶かし込んで不具合を回避できると共に、吐出の途中において、流体中に気泡が発生することがなく、吐出不具合を生じることもない。

また、上述の第 2 の方法において、試料溶液を吐出しつつ、緩衝液や N a C l を含んだ水溶液、ポリマーを含んだ水溶液のような置換液を試料注入口 5 2 から  
10 キャビティ 5 6 に注入し、キャビティ 5 6 内に残留する試料溶液を完全に吐出し、次の試料注入に備えることができる。

そして、キャビティ 5 6 内に試料溶液が残留しているかどうか（試料溶液として吐出できるかどうか）を検知するのにも、同じく、キャビティ 5 6 内の流体特性の変化を検知することにより把握できる。この場合、置換完了検出機構により  
15 使用に供しない試料のパーシ量（パーシ量）を極めて少なくすることができると共に、試料溶液の使用効率を向上させることができる。

また、試料を試料注入口 5 2 からキャビティ 5 6 に充填する際に、アクチュエータ部 5 8 を駆動させながら試料を試料注入口 5 2 からキャビティ 5 6 内に置換させてもよい。この場合、予め安価な置換液によりキャビティ 5 6 内を確実に置  
20 換でき、その結果、吐出不良が発生することを完全に防止でき、高価な試料を効率よく吐出できる。

更に、キャビティ 5 6 内に緩衝液や N a C l を含んだ水溶液、ポリマーを含んだ水溶液などの置換液を充填し、キャビティ 5 6 内と試料注入口 5 2 内にある置換液の量を調整して所定の量にし、次に、試料溶液を試料注入口 5 2 から所定の  
25 液量だけ注入した後、アクチュエータ部 5 8 を所定のパルス数だけ駆動し、キャビティ 5 6 内と試料注入口 5 2 内にある置換液の量だけ排出してもよい。

そうすることにより、キャビティ 5 6 内と試料注入口 5 2 内にある置換液の量だけ正確に排出され、無駄なく試料溶液の充填を完了することができる。

そして、上述の第1及び第2の方法等においては、図11に示すように、基板10上に形成されるスポット80の平面形状がほぼ円形となる。この場合、各スポット80の長軸Laと短軸Lbの比が0.9以上、1.1以下である。

これにより、各スポット80において形状上のばらつきが低減され、未知のDNAを検査した場合においても、スポット80からの蛍光発光をCCDカメラ等で認識することが容易になり、検査精度が向上することとなる。特に、スポット80の平面形状がほぼ円形であることから、スポット80の形成の際に試料溶液が流れるということが回避され、複数のスポット80において試料溶液が混合するという不都合を防止することができる。

また、本実施の形態では、図12に示すように、多数のスポット80を配列する際に、隣接するスポット80が接触する位置まで集積させることができ、更には、図13に示すように、多数のスポット80を千鳥状に配列することも可能となる。この場合、隣接するスポット80が接触する位置まで集積させたとき、基板10上における検査有効面積Aa（スポット80が配列されたほぼ矩形の領域の面積Aa）に対するスポット80の非付着面積Ab（スポット80が形成されていない部分の面積Ab）の割合は9%程度以下となる。

このように、本実施の形態では、スポット80の高集積化を達成させることができるため、一度に大量且つきめ細かい遺伝子解析を行うことができる。

また、本実施の形態では、図14Aに示すように、スポットの大きさが異なる複数のスポットを基板上に形成することができる。図14Aの例ではDNA断片の種類が異なる1A～3Dの各スポット間において、スポット上に固定化されるDNA量が異なる、或いは被検体とハイブリダイゼーションする効率が異なるDNA種が固定化された場合、スポットの大きさ、一般的には円形形状における径を変化させている。

具体的には、スポット上に固定化されるDNA量が少ない、或いは被検体とハイブリダイゼーションする効率が低いDNA種が固定化された1A、1D、2B、2C、2D、3A、3Dのスポットは、スポット径を大きく、中間の1B、2A、3Bのスポットはスポット径を中間に、スポット上に固定化されるDNA量が多

い、或いは被検体とハイブリダイゼーションする効率が高いDNA種が固定化された1C, 3Cのスポットは、スポット径を小さく形成している。このようにすることにより、被検体を捕らえる能力のバラツキを抑え、スポット間の検出感度の違いによる検査結果のバラツキ、定量性の劣化を抑えることが可能になる。

- 5      また、本実施の形態では、図14Bに示すように、同一のDNA断片について、それぞれ大きさ（スポット径）の異なる複数のスポットを形成することができる。図14Bの例では、同一のDNA断片1A、2A、3Aに対してそれぞれ大きさ（スポット径）の異なる4つのスポットA<sub>1</sub>～A<sub>4</sub>を形成した状態を示す。この場合、対応するDNA断片のスポットにおいて、反応するか、反応しないかとい
- 10      うデジタル的な検査結果に加えて、スポットの大きさに応じてどのくらい反応するかを把握することが可能となり、被検体に対してアナログ的な検査結果を得ることができる。

- 15      また、本実施の形態では、図15Aに示すように、各スポットに固定化されているDNA断片の量の単位面積あたりの量が異なる複数のスポットを形成することができる。図15Aの例ではDNA断片の種類が異なる1A～3Dの各スポット間において、被検体とハイブリダイゼーションする効率が異なるDNA種が固定化された場合、各スポットに固定化されているDNA断片の量の単位面積あたりの量を変化させている。

- 20      具体的には、被検体とハイブリダイゼーションする効率が低いDNA種が固定化された1A, 1D, 2B, 2C, 2D, 3A, 3Dのスポットは、固定化されているDNA断片の量の単位面積あたりの量が多く、中間の1B, 2A, 3Bのスポットは固定化されているDNA断片の量の単位面積あたりの量を中間に、被検体とハイブリダイゼーションする効率が高いDNA種が固定化された1C, 3Cのスポットは、固定化されているDNA断片の量の単位面積あたりの量が少なく形成している。このようにすることにより、被検体を捕らえる能力のバラツキを抑え、スポット間の検出感度の違いによる検査結果のバラツキ、定量性の劣化を抑えることが可能になる。
- 25      また、本実施の形態では、図15Bに示すように、同一のDNA断片について、

それぞれ基板上に固定化されているDNA断片量の単位面積あたりの量が異なる複数のスポットを形成することができる。図15Bの例では、同一のDNA断片1A、2A、3Aに対してそれぞれの基板上に固定化されているDNA断片量の単位面積あたりの量が異なる4つのスポットA<sub>1</sub>～A<sub>4</sub>を形成した状態を示す。

- 5 この場合、対応するDNA断片のスポットにおいて、反応するか、反応しないかというデジタル的な検査結果に加えて、単位面積あたりのDNA断片量に応じてどのくらい反応するかを把握することが可能となり、被検体に対してアナログ的な検査結果を得ることができる。

- また、本実施の形態では、図16及び図17に示すように、例えば、マイクロ  
10 ピペット34の吐出力等を調整することにより、基板10上に形成される例えば1層目のスポット80Aを、周縁部分120（図16参照）が盛り上がった、いわゆるドーナツ形状にし、更に、これらドーナツ形状のスポット80Aを乾燥した後、該スポット80A上に異なるDNA断片を含む平面ほぼ円形のスポット80Bを形成する。これによって、同一のスポット形成位置にそれぞれ試料の異なる  
15 スポット80A及び80Bを形成することができる。この場合、スポット80の配置面積を大幅に低減することができ、DNAマイクロアレイ20自体の小型化を図ることができる。

- なお、同一のスポット形成位置にそれぞれ、種類の異なる試料からなるスポットを形成することは、このようにスポットの周辺と中心部にその形成位置を割り  
20 振る配置に限定されることではないが、このように同心円上にスポット有効エリアを配置することは、異なるスポット間での形状のバラツキを低減するのに効果的である。

- 以上のようなDNAマイクロアレイは、インクジェット法によって好適に製造される。特に異なる試料を同一のスポット内に形成する場合や、異なる試料の  
25 スポットを接触させて配置する場合は、従来のピン式では、ピンの汚染の問題から製造不可であるが、非接触でスポットを形成するインクジェット法では、精度良く効率的に実現できる。

なお、この発明に係るDNAマイクロアレイは、上述の実施の形態に限らず、

この発明の要旨を逸脱することなく、種々の構成を採り得ることはもちろんである。

#### 産業上の利用可能性

- 5      以上説明したように、本発明に係るDNAマイクロアレイによれば、以下のよう  
な効果を奏することができる。
  - (1) 遺伝子解析のための検査精度を向上させ、定量評価が可能となる。
  - (2) スポットの高集積化を達成させることができ、一度に大量且つきめ細かい  
遺伝子解析を行うことができる。
- 10    (3) 反応するか、反応しないかというデジタル的な検査結果に加えて、スポッ  
トに固定化されるDNA断片の量に応じてどのくらい反応するかを把握すること  
が可能となり、被検体に対してアナログ的な検査結果を得ることができる。



## 請求の範囲

1. 被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために用いられる  
キャプチャー溶液を複数種類基板上に供給して、基板上にキャプチャー溶液によ  
5 るスポットが多数配列されたバイオチップにおいて、  
    スポットの大きさが異なる複数のスポットが基板上に形成されていることを特  
    徴とするバイオチップ。
2. 被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために用いられる  
10 キャプチャー溶液を複数種類基板上に供給して、基板上にキャプチャー溶液によ  
    るスポットが多数配列されたバイオチップにおいて、  
    同一種類のキャプチャーについて、それぞれ基板上のスポットの大きさが異なる  
    複数のスポットが形成されていることを特徴とする請求項1記載のバイオチップ。  
15
3. 被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために用いられる  
キャプチャー溶液を複数種類基板上に供給して、基板上にキャプチャー溶液によ  
    るスポットが多数配列されたバイオチップにおいて、  
    各スポットに固定化されているキャプチャー量の単位面積あたりの量が異なる  
20 複数のスポットが形成されていることを特徴とするバイオチップ。
4. 被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために用いられる  
キャプチャー溶液を複数種類基板上に供給して、基板上にキャプチャー溶液によ  
    るスポットが多数配列されたバイオチップにおいて、  
25 同一種類のキャプチャーについて、それぞれ基板上に固定化されているキャプ  
    チャー量の単位面積あたりの量が異なる複数のスポットが形成されていることを  
    特徴とする請求項3記載のバイオチップ。

5. 被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために用いられるキャプチャー溶液を複数種類基板上に供給して、基板上にキャプチャー溶液によるスポットが多数配列されたバイオチップにおいて、

5 同一のスポット形成位置にそれぞれ、種類の異なるキャプチャーからなるスポットが形成されていることを特徴とするバイオチップ。

6. 被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために用いられるキャプチャー溶液を複数種類基板上に供給して、基板上にキャプチャー溶液によるスポットが多数配列されたバイオチップにおいて、

10 各スポットの形状が略円形であり、且つ略円形の長軸と短軸の比が0.9以上、1.1以下であることを特徴とするバイオチップ。

7. 被検体と特異に反応し、被検体の構造に対する情報を得るために用いられるキャプチャー溶液を複数種類基板上に供給して、基板上にキャプチャー溶液によるスポットが多数配列されたバイオチップにおいて、

15 前記スポットが少なくとも千鳥状に配列されており、且つ基板上における検査有効面積に対する前記スポットの非付着面積の割合が9%以下であることを特徴とする請求項6記載のバイオチップ

20 8. 請求項1～7のいずれか1項に記載のバイオチップにおいて、前記試料溶液によるスポットがインクジェット方式にて形成されていることを特徴とするバイオチップ。

FIG. 1

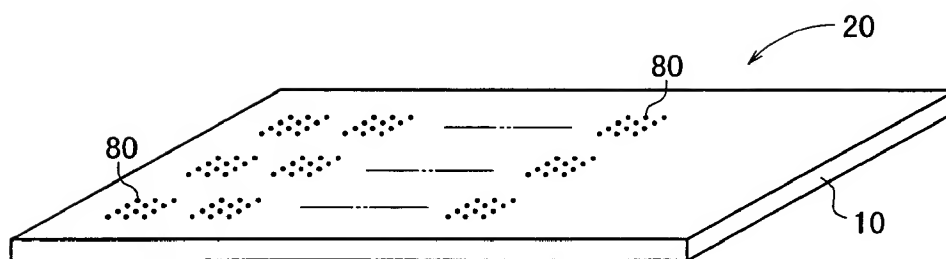


FIG. 2

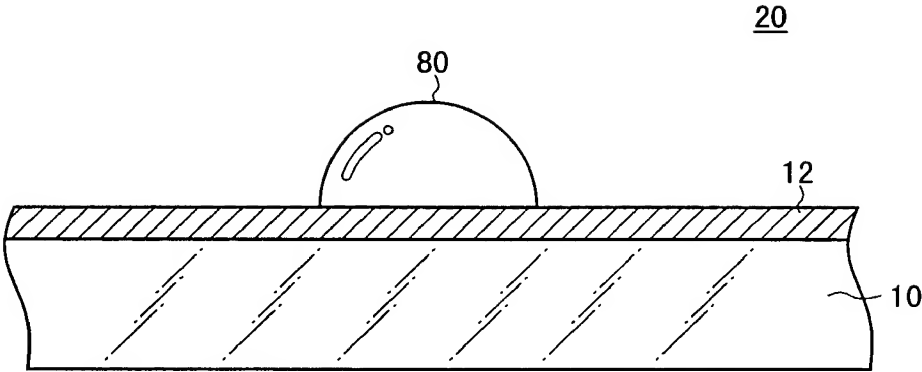


FIG. 3

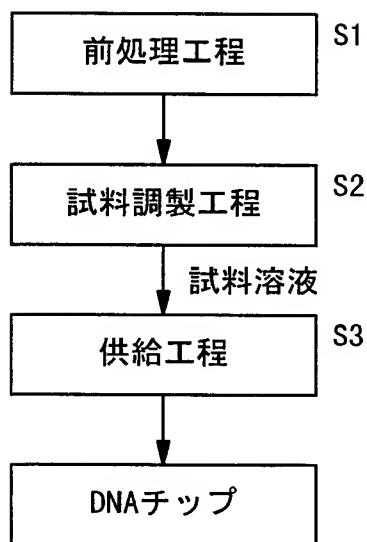


FIG. 4

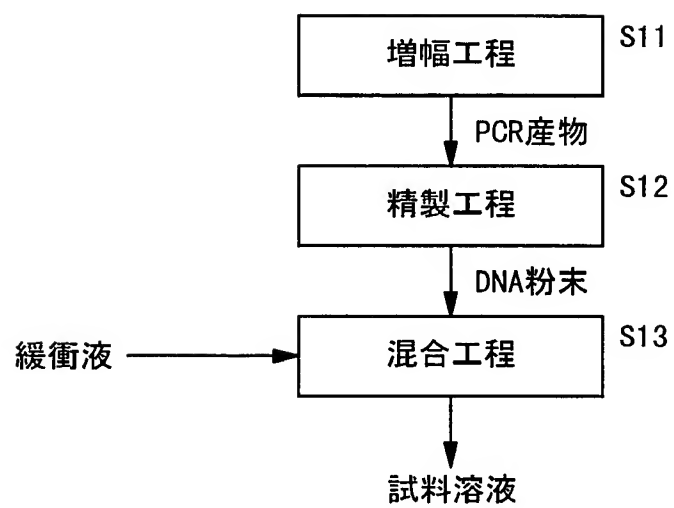


FIG. 5A

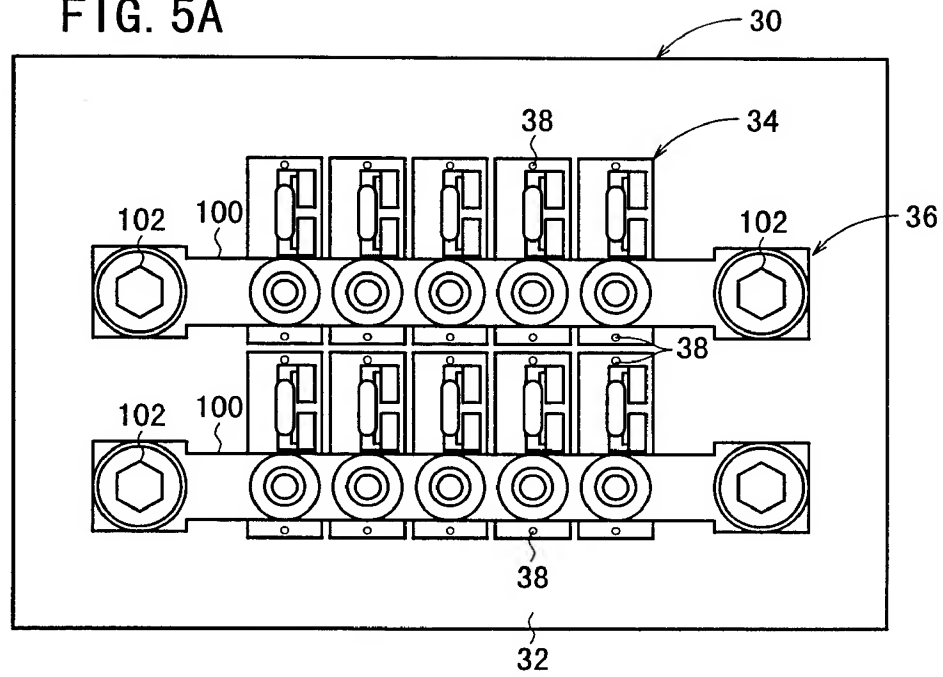


FIG. 5B

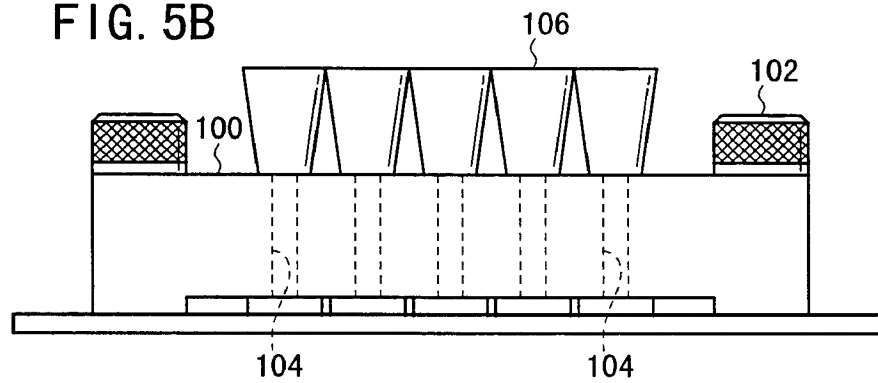


FIG. 5C

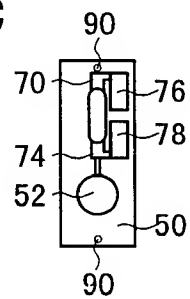
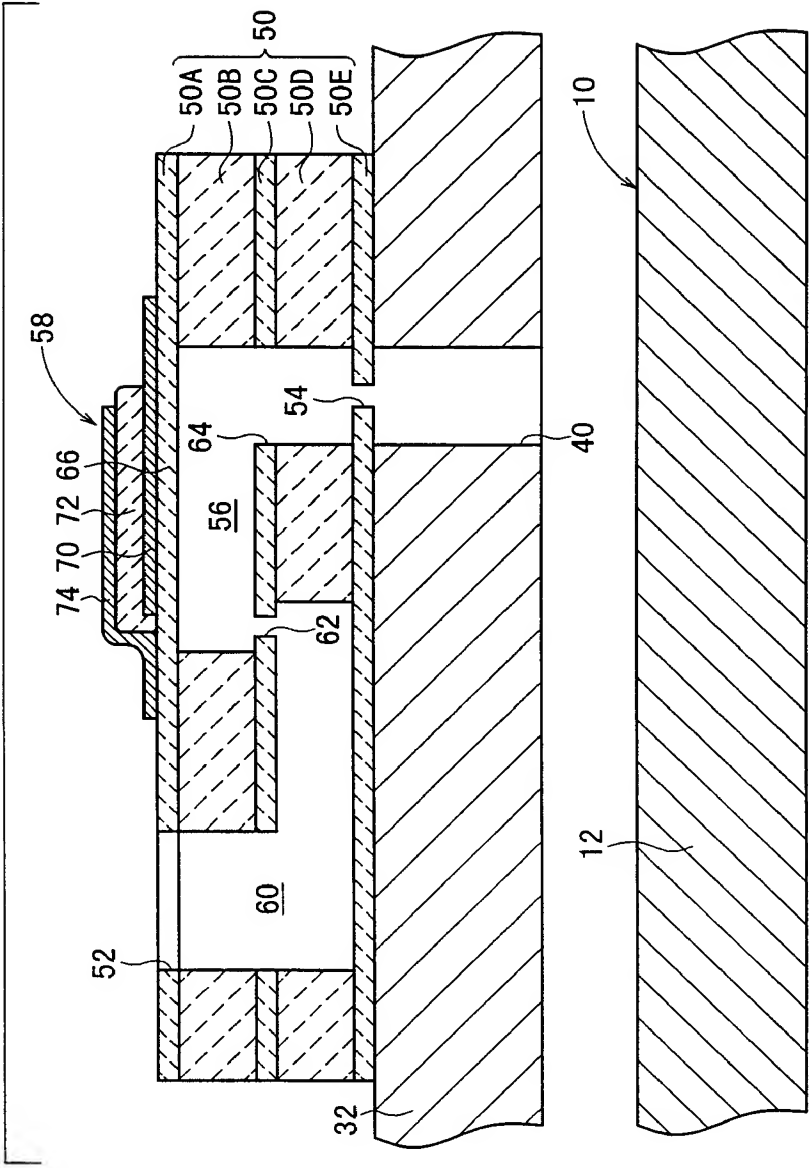
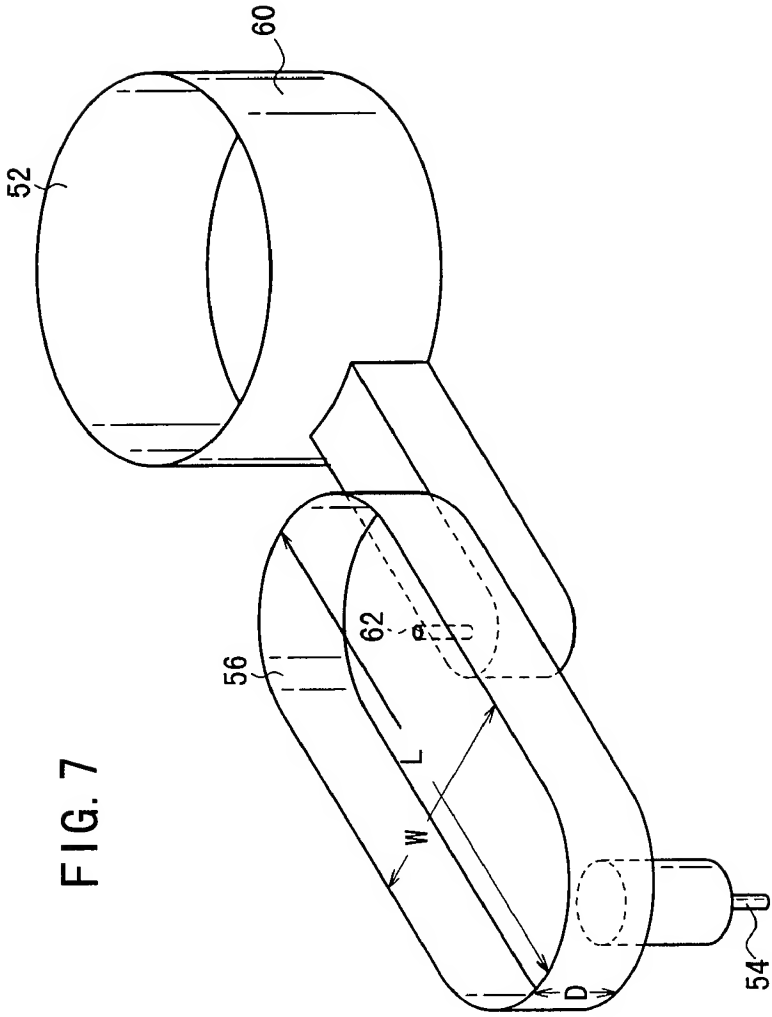


FIG. 6







8/18

FIG. 8

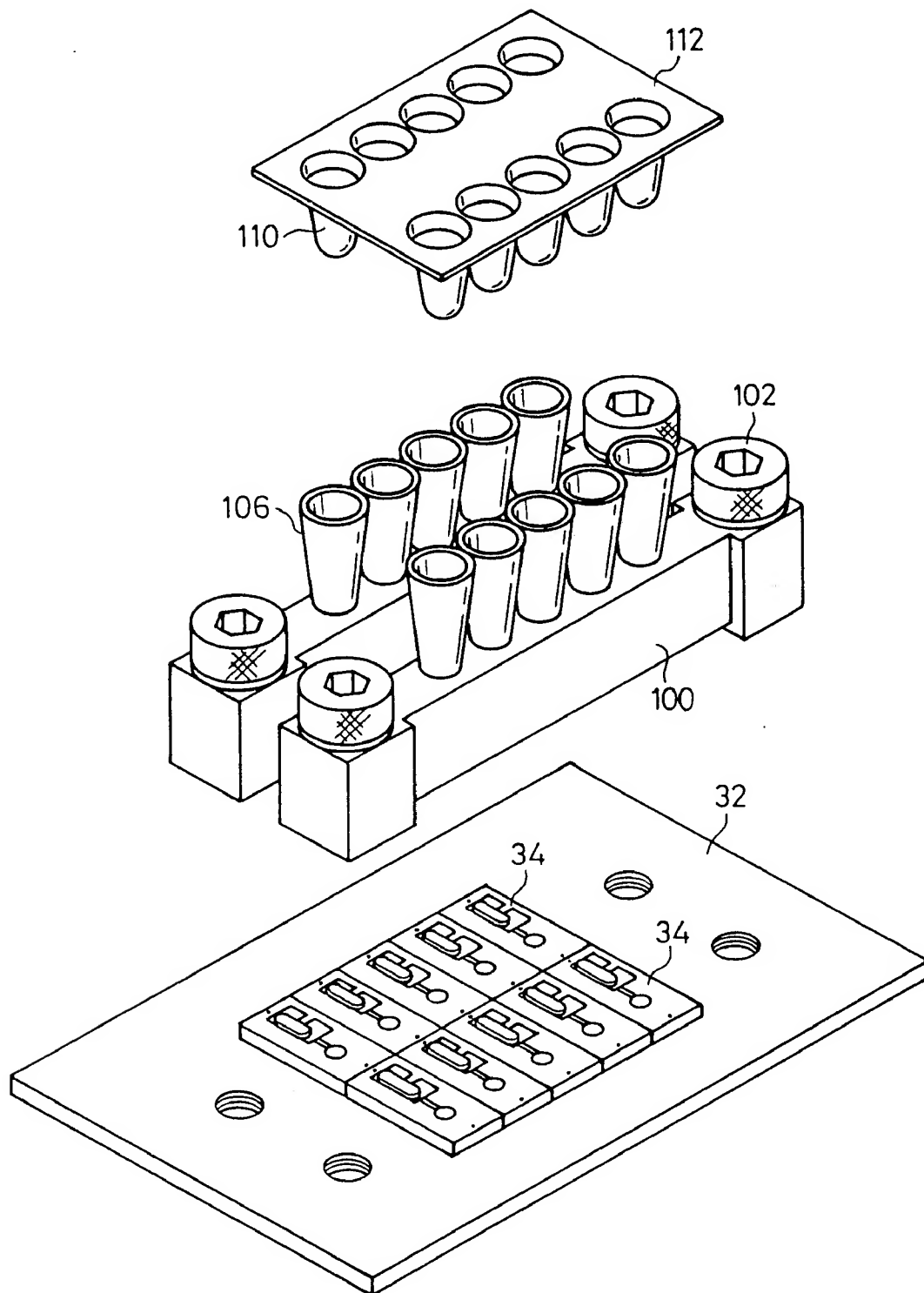
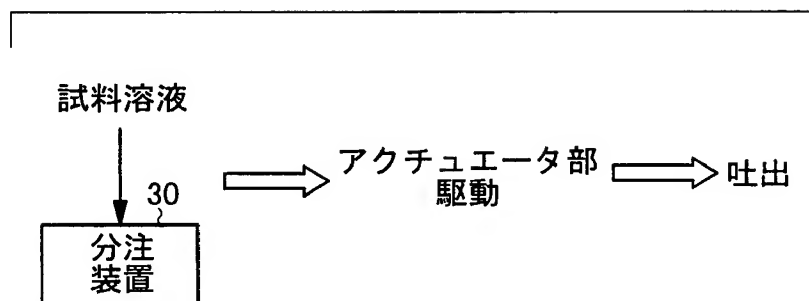
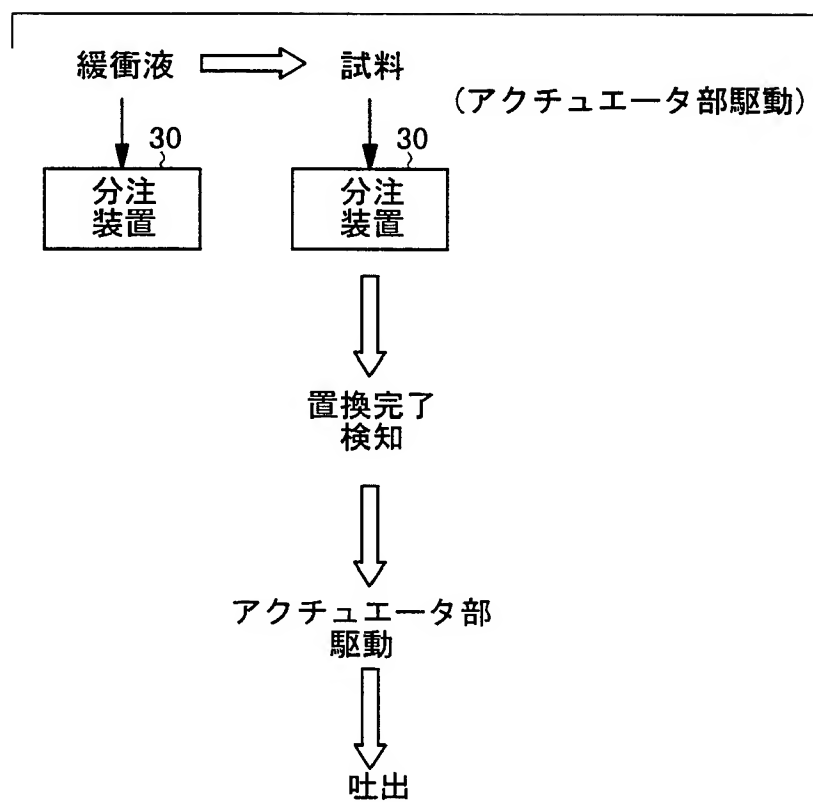


FIG. 9



10/18

FIG. 10



11/18

FIG. 11

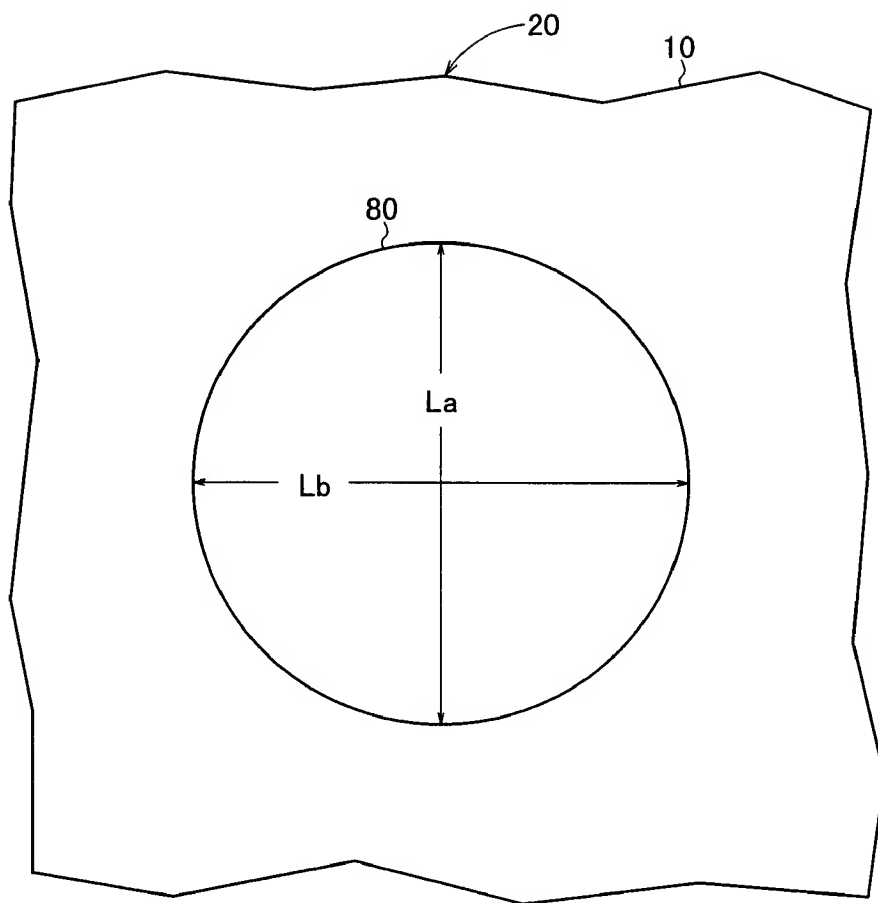


FIG. 12

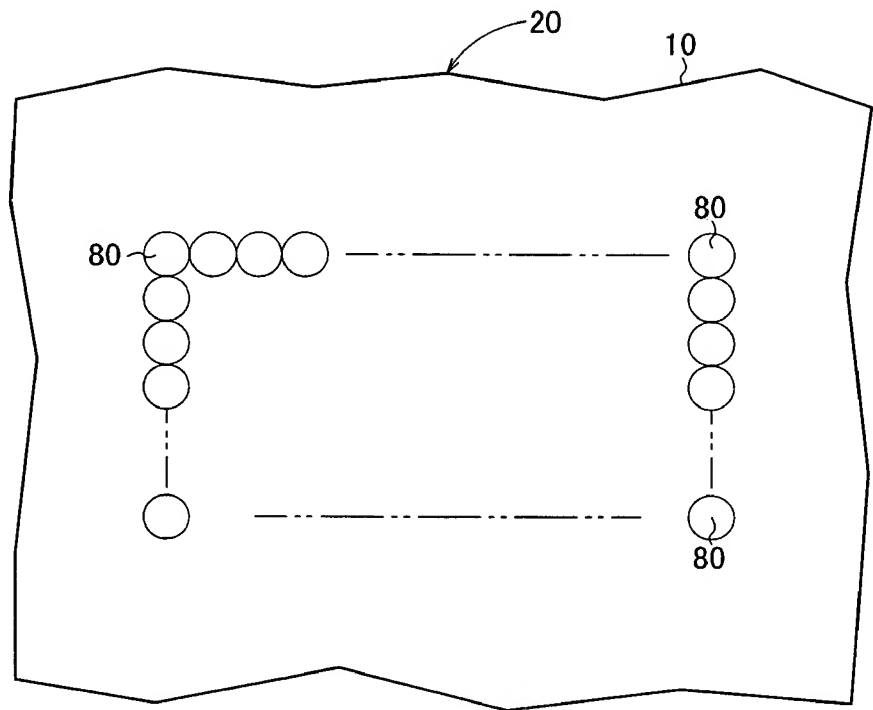
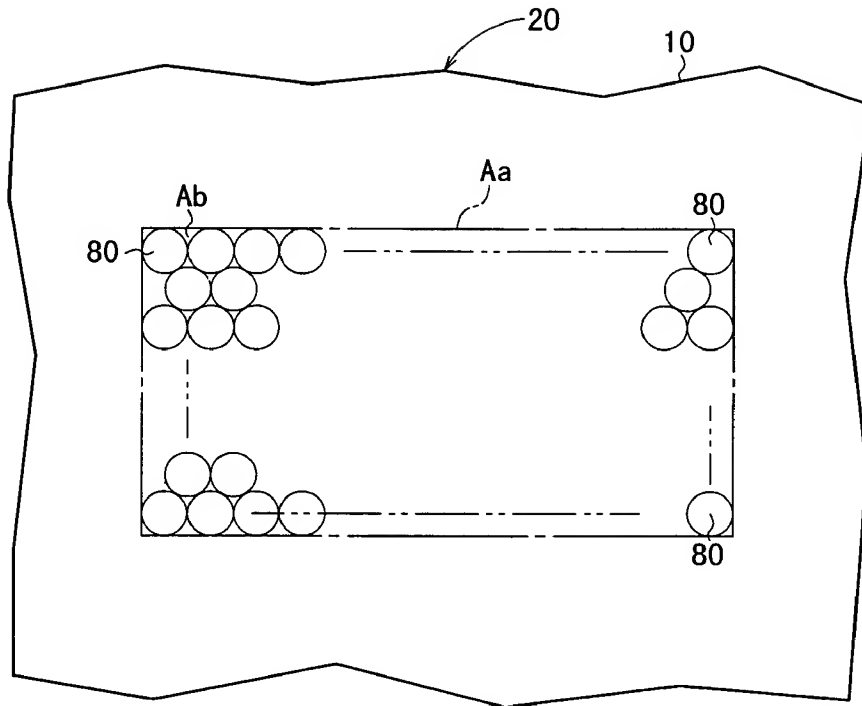


FIG. 13



14/18

FIG. 14A

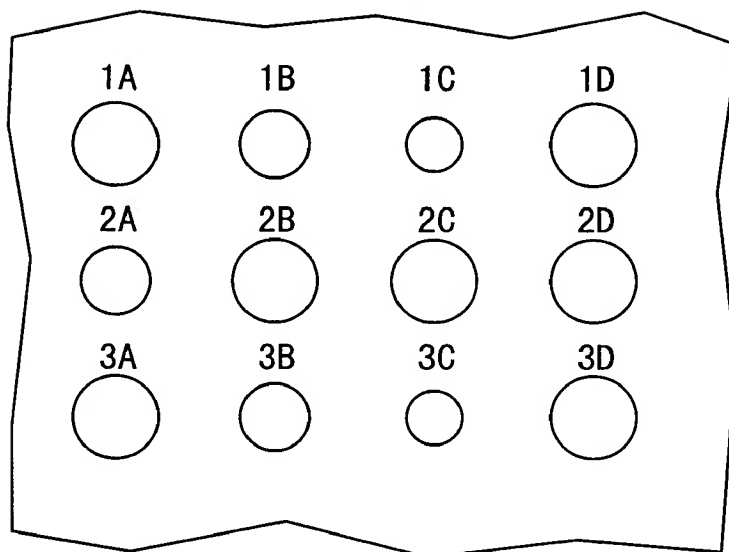
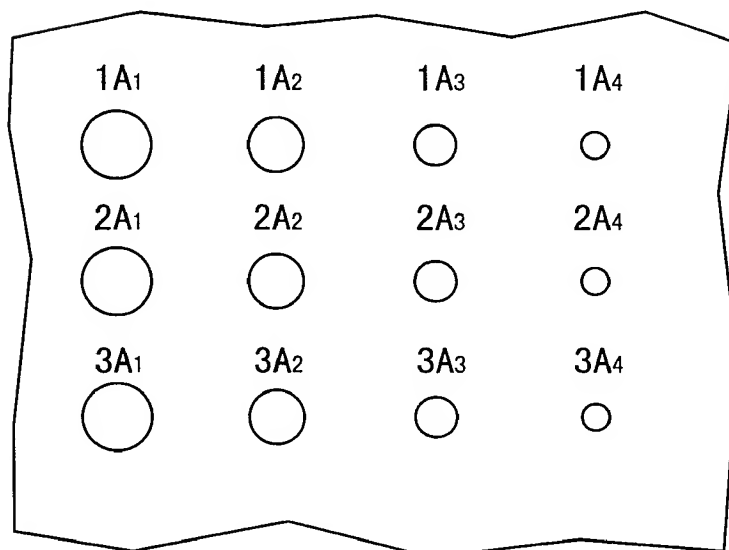


FIG. 14B





15/18

FIG. 15A

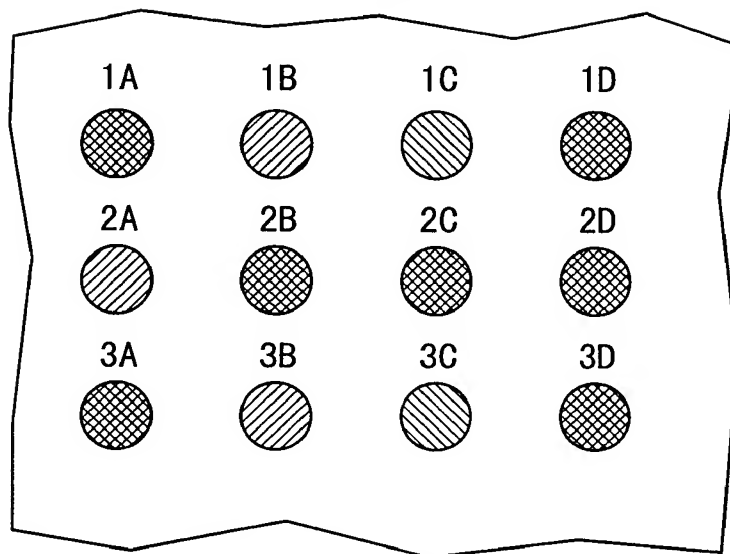
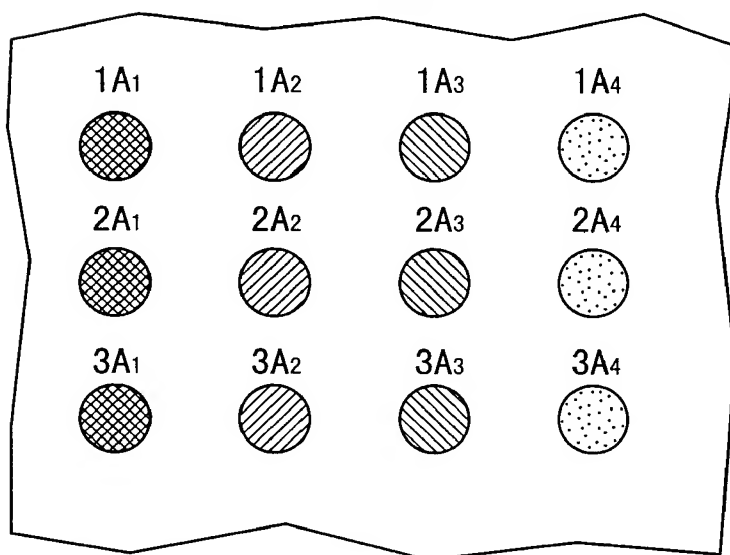


FIG. 15B



16/18

FIG. 16

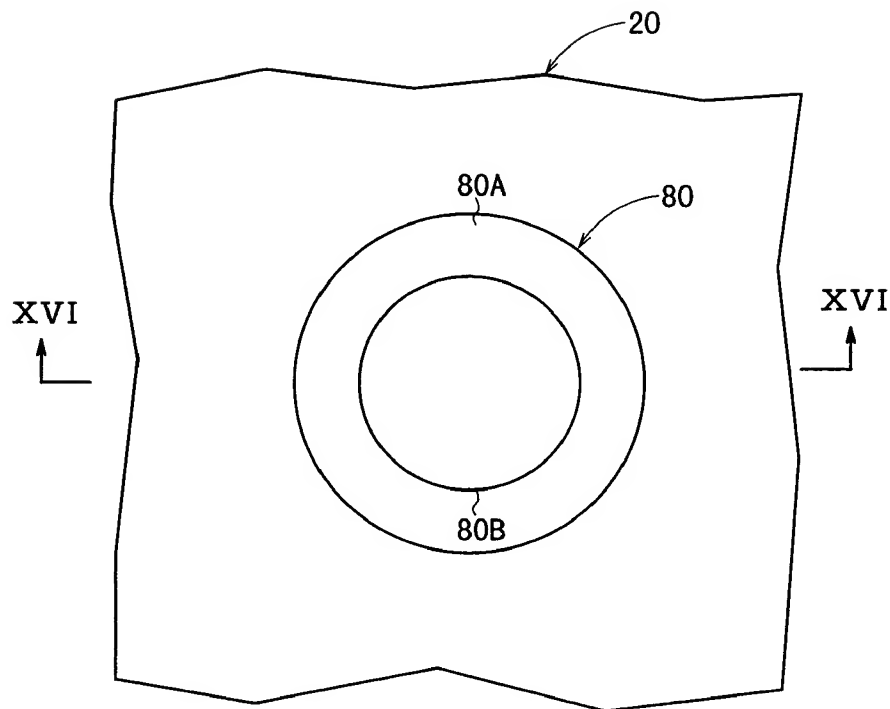


FIG. 17

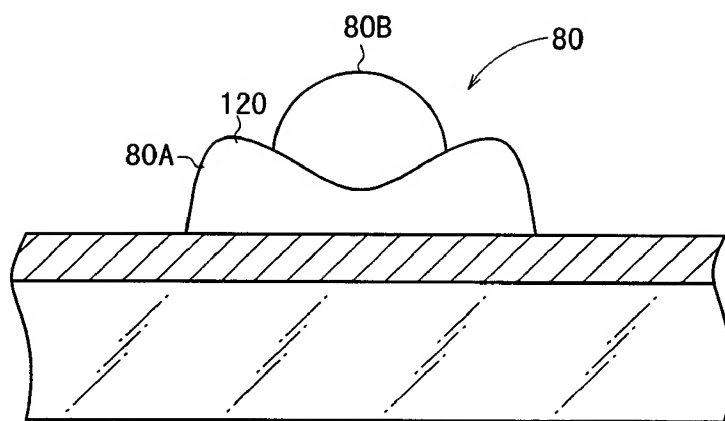
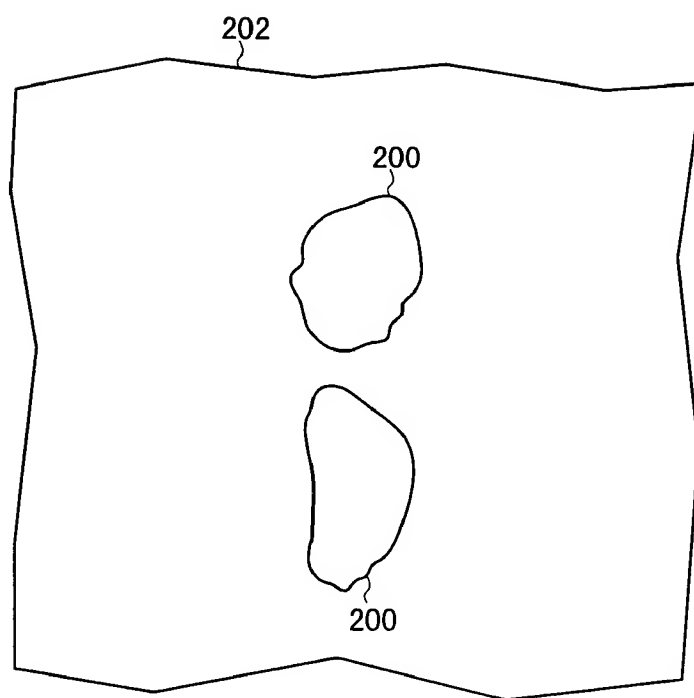


FIG. 18



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/07343

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N33/566, G01N33/53, G01N37/00, G01N35/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> G01N33/566, G01N33/53, G01N37/00, G01N35/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2000
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2000	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2000

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS, JOIS

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	JP, 10-503841, A (The Board of Trustees of the Leland Stanford Junior University), 07 April, 1998 (07.04.98) & WO, 95/35505, A	6 1-5, 7-8
X A	JP, 9-504864, A (Huston Advanced Research Center), 13 May, 1997 (13.05.97) & WO, 95/11755, A	6-8 1-5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:  
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
 "E" earlier document but published on or after the international filing date  
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
19 December, 2000 (19.12.00)Date of mailing of the international search report  
16 January, 2001 (16.01.01)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> G01N33/566, G01N33/53, G01N37/00, G01N35/10

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> G01N33/566, G01N33/53, G01N37/00, G01N35/10

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年  
日本国公開実用新案公報 1971-2000年  
日本国登録実用新案公報 1994-2000年  
日本国実用新案登録公報 1996-2000年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)  
BIOSIS, JOIS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	JP, 10-503841, A (ザ ボード オブ トランジェーズ オブ ザ レランド スタンフォード ジュニア ユニバーシティ) 7.4 月. 1998 (07. 04. 98) & W0, 95/35505, A	6 1-5、7-8
X A	JP, 9-504864, A (ヒューストン・アドバンスド・リサーチ・セン ター) 13. 5月. 1997 (13. 05. 97) & W0, 95/11755, A	6-8 1-5

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日  
19. 12. 00

国際調査報告の発送日  
16.01.01

国際調査機関の名称及びあて先  
日本国特許庁 (ISA/J P)  
郵便番号 100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)  
加々美一恵

2J

9408

電話番号 03-3581-1101 内線 3252